杆状病毒与昆虫宿主相互作用的研究进展

孟庆峰，刘晓勇*
（江苏大学生命科学研究院，江苏镇江 212013）

摘要：杆状病毒与昆虫宿主相互作用是一种基本的分子和生态问题，不仅在农业上，而且在真核表达系统、基因治疗、蛋白表面展示系统以及基因工程疫苗等方面都有重要的实际应用。杆状病毒还是一种很有潜力的病毒杀虫剂，而且对环境来说是安全的。研究这些相互作用也产生了许多重要和有价值的发现。杆状病毒生命循环中存在两种不同形式的病毒，即包埋型病毒粒子(occlusion derived virus, ODV) 和出芽型病毒粒子(budded virus, BV)。ODV包裹于多角体中，主要负责宿主的原发感染；而BV由感染的宿主细胞释放后引发继发感染。病毒侵染起始于敏感的昆虫宿主食用了污染包涵体病毒的植物。在宿主中肠的碱性环境中，多角体溶解释放ODV，ODV与宿主肠道柱状上皮细胞细胞膜融合，通过内吞体进入细胞。之后核衣壳从内吞体中逃脱并被转运到细胞核。病毒转录和复制在细胞核进行，新生的BV粒子从基底膜出芽引起全身感染。杆状病毒与宿主细胞相互作用包括从病毒结合和进入时的相互作用，到宿主基因表达调节，以及修饰与调节细胞和机体所发生的生理和防御的相互作用的复杂和微妙的机制。本文主要以杆状病毒侵染昆虫宿主的过程为线索，总结和评述了杆状病毒与昆虫宿主相互作用方面研究的最新进展，特别是杆状病毒基因在病毒入侵过程中所起的作用。

关键词：杆状病毒；昆虫；宿主；病毒-宿主相互作用；侵染过程；表达载体
中图分类号：Q965.8　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2013)08-0925-09

Research progress in the interactions of baculoviruses with host insects

MENG Qing-Feng, LIU Xiao-Yong* (Institute of Life Sciences, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China)

Abstract: The interactions of baculovirus with insect host is a basic molecular and ecological process that has practical applications not only in agriculture but also in Eukaryotic expression systems, gene therapy, protein display systems and engineering vaccine. In addition, baculoviruses are promising viral insecticides and are friendly to the environment. A number of important and valuable discoveries have emerged from studies of these interactions. The baculovirus life cycle involves two distinct forms of virus, *i. e.*, occlusion derived virus (ODV) and budded virus (BV). The former is present in polyhedrin and responsible for the primary infection of the host while the latter is released from the infected host cells and caused the secondary infection. Typically, the initial infection occurs when a susceptible host insect feeds on plants that are contaminated with the occluded form of the virus. The polyhedrin dissolves in the alkaline environment of the host midgut, releasing ODV that then fuse to the columnar epithelial cell membrane of the host intestine and are taken into the cell in endosomes. Nucleocapsids escape from the endosomes and are transported to nucleus. Viral transcription and replication occur in the cell nucleus and new BV particles are budded out from the basolateral side to spread the infection systemically. The interactions of baculovirus with host cells include the physical interactions occurring during viral binding and entry, the complex regulation of host gene expression and modification and regulation of cellular organismal defenses. Here, we review the recent investigations on how baculoviruses interact with insect hosts during the infection process, especially the roles of genes of baculoviruses during viral infection.

Key words: Baculovirus; insect; host; virus-host interaction; infection process; expression vector

杆状病毒(baculovirus)是一类杆状、有囊膜的双链DNA的大型病毒，节肢动物中所特有，也是已知昆虫病毒中的类群最大、发现最早、研究最多且实用意义较大的昆虫病毒。人们对杆状病毒的兴趣

基金项目：国家自然科学基金项目(31101673)
作者简介：孟庆峰，男，1988年7月生，山东济宁人，硕士研究生，研究方向为昆虫生理生化与分子生物学，E-mail: fengzi3321@163.com
*通讯作者 Corresponding author, E-mail: liuxiaoyong@ujs.edu.cn
收稿日期 Received: 2013-03-08；接受日期 Accepted: 2013-06-24

起初集中于家蚕脓病病原研究和农林害虫的病毒杀虫剂开发(van Beek and Davis, 2007),但现在杆状病毒还被用作外源基因高效表达的载体(Hitchman *et al.*, 2009),而且在基因治疗(Hu, 2006; Airenne *et al.*, 2013)以及蛋白质表面展示系统(Makela and Oker-Blom, 2008)的研究上都有所应用。

杆状病毒与其宿主之间的相互作用,包括从病毒结合和进入宿主时的物理作用到主动调节宿主基因表达和修饰(Thiem, 2009)以及宿主防御等复杂的过程。对杆状病毒与宿主互作的生化与分子生物学的研究中曾经产生出许多有意思和重要的发现。从这些研究中得到的知识同时产生了一些环境友好型的害虫控制与改进真核表达载体系统的新方法。另外,一系列的重要和有价值的模型生物系统从杆状病毒的研究中产生,包括研究真核转录、病毒 DNA 复制、膜融合和细胞凋亡的系统等等。随着 DNA 重组技术的应用以及病源和宿主基因组主要基因结构与功能的阐明,我们对杆状病毒入侵宿主的过程和病毒与宿主昆虫细胞间的关系在分子水平上有了新的认识,并积累了大量信息(Cheng and Lynn, 2009)。本文主要介绍杆状病毒侵染过程及其与宿主相互作用的一些研究。

1 病毒侵入中肠

鳞翅目昆虫中肠肠腔有着碱性肠液和一些有抗病毒活性的物质,杆状病毒则可耐受和利用这种极端的微环境。如在家蚕幼虫消化液中有一种丝氨酸蛋白酶和一种脂肪酶在体外环境中对家蚕核型多角体病毒(*Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus, BmNPV)有抗性(Ponnuvel *et al.*, 2003; Nakazawa *et al.*, 2004)。Selot 等(2007)报道了一种在家蚕中肠肠液中的 26.5 kDa 蛋白也有抗 BmNPV 的作用,并鉴定为一种可溶性的 NADH 氧化还原样蛋白(BmNOX)。用 BmNOX 处理有活性的 BmNPV 颗粒能抑制其在体外感染 BmN(家蚕卵巢细胞系)细胞的能力。

昆虫中肠的碱液溶解包涵体,释放多角体衍生的病毒粒子(occlusion-derived virus, ODV)到中肠肠腔。ODV 在多角体进入中肠肠腔释放,再结合到围食膜(peritrophic membrane, PM)。在围食膜中发现的围食膜蛋白与围食膜有着很强的非共价键的相互作用,而且对蛋白酶有抗性。围食膜通过阻止细菌、真菌和病毒等大的颗粒而有了免疫防御功能。为了进入中肠组织,ODV 必须通过病灶突破围食膜,或是释放能消化围食膜的病毒蛋白酶,如增效蛋白(enhancins)。增效蛋白是一种金属蛋白酶,它能够切割围食膜网格中的粘蛋白样蛋白交叉几丁质链。增效蛋白在包涵体基质中与 ODV 共包埋或存在于 ODV 的表面(Slavicek and Popham, 2005)。增效蛋白是一个杆状病毒特化适应宿主的例子。研究杆状病毒增效蛋白不仅对昆虫病毒生物学非常重要,而且这些蛋白能暴露昆虫免疫系统的漏洞。

杆状病毒经口感染因子(*per os* infectivity factor, PIF)介导病毒粒子与位于中肠上皮细胞膜上的受体的特异性结合(Kikhno *et al.*, 2002),可以增加多角体的感染力。到现在为止,该家族共有 6 种蛋白质得到证实:P74(PIF-0),PIF-1,PIF-2,PIF-3,PIF-4,PIF-5(ODV-E56)(Faulkner *et al.*, 1997; Kikhno *et al.*, 2002; Pijlman *et al.*, 2003; Ohkawa *et al.*, 2005; Fang *et al.*, 2009; Harrison *et al.*, 2010; Sparks *et al.*, 2011)。其中,P74,PIF-1 和 PIF-2 共定位于 ODV 囊膜(Faulkner *et al.*, 1997; Kikhno *et al.*, 2002; Fang *et al.*, 2006; Fang *et al.*, 2009; Harrison *et al.*, 2010),并且与 PIF-3 一起形成中心 PIF 复合物,介导病毒进入细胞。Pif-3 增加经口感染力,但不参与融合到中肠细胞。另一个杆状病毒基因编码的 Pif-4 包含一个围食膜蛋白结构域,剔除编码这个蛋白的基因导致经口毒性降低(Zhang *et al.*, 2005a)。

2 多角体裂解和感染中肠上皮细胞

在 ODV 病毒粒子脂质双层的囊膜和多角体蛋白基质外面有一个糖蛋白多层的纤维状的网,称为多角体膜(polyhedral envelope, PE)。它是多角体与环境之间的最后分离的物理结构,能保护多角体。许多杆状病毒的包涵体释放病毒到蛋白酶的环境中,推测多角体膜能帮助包涵体抵抗病毒和非宿主的酶类的降解。PE 是一个设计得很好的结构,能充分保护包涵体及其完整性,直到被昆虫宿主摄食。PE 网格能完全限制大的酶类进入包涵体基质,但允许宿主中肠碱液阴离子快速的渗入。这样多角体蛋白结晶快速破坏,PE 破裂,ODV 进入中肠。

围食膜是片层状结构的膜,保护中肠上皮细胞免遭食物通过时造成的各种伤害,并能让高分子营养物质自由通过。穿过围食膜后,ODV 接近中肠上皮组织。ODV 主要感染柱状细胞,柱状细胞在肠腔

侧表面是刷状缘微绒毛，ODV 特异地结合到微绒毛的极性端。ODV 的脂质双层囊膜（envelope）直接与中肠细胞膜融合（Haas-Stapleton *et al*.，2004），这样核衣壳进入细胞质内。然后核衣壳移动到细胞核中，该过程中涉及肌动蛋白的聚合（Ohkawa *et al*.，2010）。在病毒粒子成功地结合到细胞表面之后，核衣壳必须进入到细胞质中。包裹的病毒通常进入细胞依靠在细胞表面的直接膜融合或是受体介导的内吞作用。经口感染因子 P74 在此过程中起重要作用。另外有文献报道分离到 P74 与细胞膜的表面受体（Zhang *et al*.，2005b）。

因为基底膜是中肠上皮细胞产生的，而当病毒复制时中肠上皮细胞的转录与转译受到抑制，明显干扰了基底膜的形成、保持与完整，从而促进了子代成熟病毒粒子的通过、感染血淋巴细胞与气管元件，在病毒进一步转运到其他组织的过程中起着重要作用。

Vlak 研究小组构建了一个重组苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒（*Autographa californica* multicapsid nucleopolyhedrovirus，AcMNPV），该病毒含有两个报告基因，能够在单个细胞内检测出早期与晚晚期基因的表达（Flipsen *et al*.，1995）。重组病毒经口接种甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 2 龄幼虫后 3 h，即能在中肠柱状细胞内观察到，接种后 6 h 再生细胞内也显示感染。柱状细胞内病毒晚晚期基因最早表达时间是接种后 12 h，这标志着病毒的复制。直到接种后 20 h 还找不到有病毒早期基因表达的血淋巴细胞。接种 36 h 后感染主要仍限于与中肠感染部位相连接的组织。而正是中肠的感染拉开了全身感染的序幕。ODV 迁移到细胞核中，在其中解包装，释放 DNA 基因组。病毒基因表达，结构基因的蛋白合成，DNA 复制，新的子代病毒装配和释放。

由此可知，中肠柱状细胞是原发感染的主要靶细胞，但再生细胞也是原发感染的靶细胞。很明显，入侵的少数亲代核衣壳通过柱状细胞直接转运到位于其基部的再生细胞内。当鳞翅目幼虫用高剂量的 ODV 喂食，出芽型病毒粒子（budded virion，BV）可以被观察到从中肠上皮细胞基侧出芽，几小时内就能在血淋巴中检测到有感染性的病毒（Granados and Lawler，1981）。这种在病毒 DNA 复制之前就产生 BV 的观察事实与主要的囊膜糖蛋白 GP64 的早期表达相一致。通过删除 gp64 早期启动子能减少 AcMNPV 的经口感染性（Washburn *et al*.，2003）支持了这种观点。因为感染中肠上皮细胞在一些幼虫中可能被快速的脱落，一种快速穿越组织的机制可能提供了一种选择优势。

昆虫中肠对病毒感染来说不是一个非常适合的组织，因为中肠细胞有规律地凋亡脱落，杆状病毒在这些细胞中建立感染就是与这种细胞凋亡在竞争时间（Uwo *et al*.，2002）。ODV 特化为在极端碱性环境中感染中肠上皮细胞，而不能感染其他的组织细胞。杆状病毒再继续感染除中肠以外的组织，产生大量的病毒子代是非常有利的。这样杆状病毒就进化出了第 2 个显著不同的病毒表型 BV。网格蛋白介导内吞作用帮助 BV 进入细胞，该过程由 GP64 调节（Blissard and Wenz，1992；Long *et al*.，2006）。

3　核衣壳运输和脱衣壳

杆状病毒核衣壳进入胞质后它们被转运进入核内，某些杆状病毒粒子（GV）经两次脱壳进入核内，宿主细胞肌动蛋白索在这些感染的早期阶段可能起着作用。在研究 BV 病毒粒子进入培养的 Sf21 细胞中，Charlton 观察到在感染后 30 min 内细丝状肌动蛋白（F-actin）聚集（Charlton and Volkman，1993）。这个过程可被能阻止病毒粒子进入的处理所抑制，揭示核衣壳进入使得肌动蛋白索形成。已有研究证实，某些 AcMNPV 的核衣壳蛋白（如 VP39，P78 和 VP80）直接与肌动蛋白结合形成肌动蛋白纤维帮助核衣壳穿过细胞质（Xu *et al*.，2007；Ohkawa *et al*.，2010；Marek *et al*.，2012）。

核衣壳进入宿主细胞核并在核内脱衣壳。杆状病毒核衣壳是圆桶状结构，由成螺旋形的衣壳蛋白亚单位组成。一种可能的推测是在杆状病毒核衣壳的末端的特殊结构或蛋白可能与核孔复合体的组分相作用。一种病毒蛋白，P78/83 磷酸化衣壳蛋白，位于衣壳的末端（Vialard and Richardson，1993）。可能是一个与核孔相作用的蛋白。最近有文献报道了杆状病毒 P78/83 蛋白诱导核肌动蛋白集聚使子代病毒得以繁殖的动态过程（Goley *et al*.，2006）。研究证实，AcMNPV 的核衣壳蛋白 C42 招募 p78/83 和 Arp2/3，介导核内肌动蛋白聚合（Braunagel *et al*.，2001；Wang *et al*.，2008；Li *et al*.，2010）。

病毒 DNA 从完整的核衣壳中排出，被认为牵扯到碱性 DNA 结合蛋白的磷酸化（如碱性蛋白 P6.9或 VP12）（Russell and Rohrmann，1990）。碱性 DNA 结合蛋白在核衣壳中与病毒 DNA 结合。虽然碱性 DNA 结合蛋白在感染的细胞中是磷酸化的，

但在成熟的核衣壳中并不磷酸化，并在核衣壳中与锌相联系，有趣的是锌离子被发现能抑制核衣壳相关的激酶活化导致病毒 DNA 的排出，这与天然状况下的感染观察到的脱衣壳相似。Funk 提出一种杆状病毒 DNA 脱衣壳的模型。稳定的核衣壳包含未磷酸化的碱性蛋白，同时它还与锌离子复合，在脱衣壳时，锌离子可能被螯合，激活了核衣壳相关激酶，然后使得碱性 DNA 结合蛋白磷酸化（Funk and Consigli，1993）。与鱼精蛋白相同，碱性 DNA 结合蛋白在磷酸化的形式下可能与 DNA 的亲和力很弱，这导致了 DNA 从衣壳中解聚、外排。

4 病毒粒子的复制与装配

病毒的极早期基因表达后与那些病毒粒子相关的蛋白开始操纵宿主细胞使其适合于病毒 DNA 的复制。细胞核的结构被改造，细胞核开始变大。对于 AcMNPV 这个过程在最初 6 h 内就能观察到。一个电子密度高的不规则颗粒形状的区域开始在细胞核的中心形成，称为病毒发生基质。这个基质是病毒 RNA 转录，DNA 复制，核衣壳包装的场所。感染 12 h 后病毒发生基质充满了大部分的细胞核。感染后 12 – 20 h 之间，BV 病毒粒子产生。产生的核衣壳迁移出病毒发生基质，穿过圆形区到达细胞核膜。核衣壳转移出细胞核膜，细胞质到达细胞膜，并在此穿膜出芽。这个迁移过程不是很清楚，但有证据表明和细胞的肌动蛋白是有关的（Lu *et al*.，2004）。病毒 DNA 复制与新核衣壳各种组分的表达同时进行。然后新组装的核衣壳从核内转移到细胞膜，穿过 GP64 富集区域出芽产生 BV（Passarelli，2011）。

在核内脱衣壳后，病毒 DNA 由宿主 RNA 多聚酶进行转录。杆状病毒早期启动子的 TATA 盒的试验，通过删除或突变证实这些基本元件在杆状病毒早期启动子中的功能（Kogan *et al*.，1995）。杆状病毒早期基因在转录起始位点处经常含一个保守的 CAGT 序列，相似于昆虫 RNA 多聚酶基因的结合元件（Cherbas and Cherbas，1993）。在转录起始位点的序列保守性与在脊椎动物 RNA 多聚酶 II 基因中的不同。在大多数情况下，杆状病毒早期转录的位置已经被定位在或邻近 CAGT 序列，一个 TATA 盒位于上游。杆状病毒也编码产物，用来调节病毒早期基因的转录。杆状病毒感染周期从早期到晚期的转换的特征主要是病毒 DNA 的复制，病毒 DNA 的复制原点是一些短的重复序列组成的同源区域（homologous regions，hrs），复制需要病毒的 6 个基因和一些可能参与 DNA 复制和修复的基因产物，病毒 DNA 复制可详见综述（Vanarsdall *et al*.，2007）。宿主翻译是否特异被病毒抑制仍是未知。病毒-宿主在翻译水平的相互作用可能直接或间接的影响杆状病毒在特定细胞中的复制能力。

伴随着病毒 DNA 复制，α-鹅膏蕈碱抗性的 DNA 依赖的 RNA 多聚酶活性的激活和明显抑制宿主转录，宿主 mRNA 的水平显著降低（Passarelli and Guarino，2007）。通过瞬时表达分析鉴定了许多晚期转录所需的病毒基因产物。早期转录被认为主要由形成宿主 RNA 多聚酶 Ⅱ 复合物的全体宿主转录因子所介导，宿主蛋白在后期转录的作用不清楚。研究发现一个接近 30 kDa 的磷酸化的宿主蛋白，它与 AcMNPV 多角体蛋白启动子具有高度亲和性（Burma *et al*.，1994）。后续研究发现该蛋白有编码链特异的单链 DNA 结合的活性，这是转录所必需的（Ghosh *et al*.，1998）。关于病毒基因的晚期表达因子可参见（Hefferon，2004）。

随着晚期基因产物的合成，核衣壳开始在核内装配，但对核衣壳的装配在生化和分子水平上了解的很少，电镜显示在核内装配空的衣壳，与一个电子密度“病毒发生基质”相关（Young *et al*.，1993）。通过免疫荧光扫描，核内肌动蛋白似乎和衣壳蛋白（P39）共处，表明肌动蛋白在核衣壳的装配上起作用（Charlton and Volkman，1991）。空衣壳或核衣壳首先在开始包装病毒 DNA 时出现，经常观察到与病毒发生基质相结合，揭示核衣壳首先装配，然后“填”入 DNA。包装病毒 DNA 可能涉及精蛋白纤丝样的碱性 DNA 结合蛋白（P6.9）的脱磷酸化，因为在成熟的核衣壳中仅存在脱磷酸形式的 P6.9。BmNPV 基因 *Bm*41 对于病毒复制至关重要，该基因的中断会使病毒滴度大幅度降低。另外，透射电镜实验显示 *Bm*41 的中断影响核内正常核衣壳的包裹和多角体的形成（Tian *et al*.，2009）。对于决定核衣壳是迁移到质膜（以出芽产生 BV）还是留在核内以便包囊膜和形成包涵体的机制仍不清楚。

感染的晚晚期主要特征是许多晚期基因转录的减少或停止，晚晚期基因（如多角体蛋白和涉及包涵体形成过程的 P10 基因）超量表达。在晚晚期，包涵体蛋白在核内在有囊膜的病毒粒子周围形成晶体，这种形成包涵体的过程似乎通过另外的在包涵体周围再加上一个蛋白-碳水化合物的囊膜结构

(PEP 或 PP34)而得以最终完成(Rohrmann, 1992)。在感染的细胞中多角体的成熟和释放需要晚晚期蛋白 P10，在感染的晚晚期在胞质和核内形成含有 P10 的纤丝样结构。在感染的晚期，病毒晚期蛋白 P10 开始集聚，在细胞核周围形成厚的管状网络，可能用于稳定核结构，防止细胞核在 ODV 完全成熟之前裂解，使得病毒有足够的时间完成复制(Carpentier *et al.*, 2008)。病毒核心基因 *Bm*61 的表达产物分布于核内环形区域和核膜，是 BV 从细胞中释放所必需的(Shen and Chen, 2012)。AcMNPV 核心基因 *ac*93 是核内微泡形成和释放必需的，影响 BV 的形成和 ODV 的囊膜包裹(Yuan *et al.*, 2011)。BmNPV 基因 *Bm*71 对于病毒生命周期中决定 BV 的产量和毒力有重要意义(Zhang *et al.*, 2012)。

5 感染宿主其他组织

作为对抗病毒的防御机制，感染的中肠细胞脱落，但新的细胞再生帮助肠道恢复。中肠上皮的恢复使得宿主继续进食、生长，反过来允许病毒复制，并最大量的产生子代病毒。ODV 感染中肠上皮细胞后，通过 BV 在昆虫其他组织中感染。基底膜是由蛋白组成，中肠上皮细胞由病毒操纵产生蛋白酶并释放到基底膜，这样蛋白酶降解基底膜基质使 BV 穿过。一个病毒编码的组织蛋白酶(cathepsin, V-CATH)已经与 BV 病毒粒子被共纯化得到(Lanier and Volkman, 1998)。用一种 GP64 失效的 AcMNPV 杆状病毒，它不能产生有感染力的病毒 BV 病毒粒子(Monsma *et al.*, 1996)，GP64 失效的病毒也不能在培养的细胞中进行细胞间的传播。因此 BV 病毒粒子的作用是在感染的动物体中进行细胞到细胞和组织到组织之间传播的作用。

BV 的 GP64 囊膜糖蛋白在病毒入侵细胞的步骤中具有重要功能，通过 GP64 对应的受体介导的吸附内吞作用(absorptive endocytosis)，这种功能就表现在低 pH 依赖性的膜融合作用。GP64 是杆状病毒 BV 表型的主要囊膜糖蛋白，或称膜粒蛋白(peplomer protein)，具有促膜融合特性(fusogenic properties)。研究显示 GP64 在未感染的昆虫细胞表面表达足可以介导酸诱导的膜融合活性(Monsma and Blissard, 1995)。因此，GP64 是 BV 囊膜和内吞体膜融合所必需的，酸性诱导膜融合活性所充分必要的。GP64 糖蛋白在 NPV 感染后早期出现于细胞质内，后移至细胞质膜；当 BV 通过质膜出芽时获得此蛋白。所以 GP64 是 BV 特有的结构蛋白。GP64 蛋白合成后经过磷酸化、糖基化修饰加工，并有二硫键形成。GP64 突变研究显示推测的两性分子的 α 螺旋域包含一个亮氨酸拉链的结构模块，是寡聚化所必须的。最近证实在 AcMNPV 中 GP64 蛋白的前跨膜域是膜融合和病毒感染的关键结构域(Li and Blissard, 2009)。

病毒通过内吞作用进入细胞是多个步骤，通常包括：1)病毒粒子结合到宿主细胞受体；2)宿主质膜内陷；3)形成包含囊膜病毒的内吞小泡；4)内吞体的酸化；5)这种酸性 pH 条件激发 BV 囊膜 GP64 糖蛋白与胞饮体膜融合；6)病毒和内吞体膜的融合；7)病毒核衣壳释放进入胞质。然而杆状病毒 BV 的特异病毒细胞受体相互作用的反应至今仍没有阐明。

病毒感染从中肠扩展到其他组织的一个主要途径是气管系统。从气门到血淋巴有着气管的广泛分支。这些分支深入到几乎所有的组织。中肠细胞来源的 BV 感染气管细胞，然后能传到基底膜，传到血淋巴细胞。一旦到达血淋巴，BV 就通过开放的血淋巴循环系统进一步扩散到全身组织。血淋巴是非常重要的免疫器官，是宿主对抗病毒感染的重要屏障。

6 产生 ODV 病毒粒子和多角体

在 AcMNPV 感染 20 h 时，病毒发生基质开始消退，感染转换到产生 ODV 病毒粒子。病毒发生基质变得更浓缩，核环形区扩张来适应核衣壳的累积。在环形区的核衣壳得到脂质双层囊膜后成为 ODV。在细胞核中滞留和形成衣壳病毒粒子是一个独特的生物学现象。ODV 的衣壳是一个脂质双层与细胞核内膜在组成上很相似，但又不同(Braunagel and Summers, 1994)。ODV 衣壳还含有磷脂酰胆碱而不是在 BV 衣壳中发现的磷脂酰丝氨酸。ODV 衣壳是从细胞核内膜上得到的(Braunagel and Summers, 2007)。ODV 上的蛋白组成已有较详细的研究，其中包括了病毒侵染和复制所必需的一些蛋白(Braunagel *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2008)。

ODV 病毒粒子出现在环形区之后不久，包涵体在感染后 24 h 就开始出现了。感染 48 h 之后，包涵体就通过裂解感染的细胞从细胞核中释放出来。除了细胞内相互作用，杆状病毒也编码在有机

体水平发挥功能的基因产物，并因此操纵被感染动物的生理和结构。一个基因产物蜕皮激素 UDP-糖基转移酶（EGT）通过使宿主调节蜕皮的类固醇激素（ecdysteroid）失活而延长幼虫阶段。剔除了该基因的病毒可有效缩短利用该病毒作为生物杀虫剂的致死时间（Si *et al.*, 2007）。

在感染蔓延至整个鳞翅类幼虫后，许多感染的细胞可能裂解，在体内空穴里释放多角体。然而粗糙坚硬的幼虫外骨骼提供了屏障可能阻止包涵体的释放。蛋白酶的协同作用有利于这个过程，如病毒组织蛋白酶（V-CATH）和病毒几丁质酶（chitinase, ChiA）。V-CATH 已经被证实与在 BmNPV 感染的昆虫血淋巴中出现游离的包涵体是有关的（Suzuki *et al.*, 1997）。在细胞核和细胞质中形成纤维状体的 P10 显示与宿主细胞微管有相互作用（Patmanidi *et al.*, 2003），并和细胞的裂解有关。研究证实 BmNPV 基因 *Bm9* 对于体内外病毒的产生和感染有重要作用（Yang *et al.*, 2009）。脂肪体充满了包涵体，使得昆虫呈现出乳浊的白色，在死亡之前膨大。当宿主死亡后，尸体液化，流出大量的病毒包涵体，污染食物和环境，再被新的宿主摄取。

7 宿主对病毒感染的分子和细胞反应

Hemolin 是一种血淋巴的蛋白，似乎仅限于鳞翅目，是病毒感染强烈诱导产生的。Hemolin 结合细菌脂多糖（lipopolysaccharide, LPS），和血淋巴细胞，而且可能有调理素（opsonin）的功能，或是识别分子的模式。在血淋巴中可溶的 Hemolin 可能结合病毒以使病毒感染的进程减缓（Hirai *et al.*, 2004）。

Xue 等（2012）使用第 2 代测序技术，分析 Bm5 细胞系感染 BmNPV 后基因表达的差异。基因富集分析显示，与细胞骨架、转录、翻译、能量代谢、离子代谢和泛素-蛋白酶体途径相关的基因在杆状病毒感染过程中的表达发生变化。而且第一次在系统水平上定义了病毒与宿主蛋白的作用组。实验数据证实，BmNPV 能够充分利用宿主的细胞机器完成感染（Xue *et al.*, 2012）。

凋亡（apoptosis）或细胞程序性死亡是多细胞有机体为了调节组织发育而采取的一种机制，去清除损害或病变的细胞。病毒感染时许多类型的细胞能够诱导一系列步骤而凋亡来作为一种防御手段（Clem, 2007）。细胞内的凋亡反应主要由半胱氨酰蛋白酶（如 caspases）激活和执行。caspases 家族包括 2 类酶：启动 caspases（initiator caspases）和效应 caspases（effector caspases），应对凋亡信号时以连续的方式激活（Ma and Chang, 2011）。作为对宿主细胞凋亡的“进化反应”，杆状病毒带上了能编码凋亡抑制物的基因。病毒蛋白也可以通过结合到细胞死亡途径的蛋白使之失活而抑制凋亡。杆状病毒感染昆虫细胞诱导凋亡首先在缺乏有功能的 p35 基因的 AcMNPV 病毒感染的昆虫 Sf21 细胞中观察到（Clem *et al.*, 1991）。P35 是 caspases 的直接底物抑制剂（Bump *et al.*, 1995）。首先在斜纹夜蛾核型多角体病毒（SlNPV）中发现的 P49 是一种 P35 的类似物，也是一种凋亡酶的抑制物（Guy and Friesen, 2008）。

除了 P35 和 P49，另一个凋亡抑制物在两个其他杆状病毒中被发现，这些 P35 的功能同源物被称为“凋亡抑制物”（inhibitor of apoptosis 或 IAP 蛋白）（Dubrez-Daloz *et al.*, 2008）。

8 小结与展望

我们对昆虫与它们的杆状病毒病原物分子间相互作用的理解还很有限。对培养细胞的研究已经告诉我们许多杆状病毒分子机理和它是怎样被调控的，但毕竟不总是与在幼虫中的病毒行为一致。因此更多的研究需要在体内（*in vivo*）进行研究，这样能更好地理解杆状病毒和它的宿主之间复杂的相互作用关系。比如，ODV 衣壳与中肠上皮细胞的微绒膜在极度碱性的中肠环境下的融合，这个研究不仅对更好地理解杆状病毒在自然条件下的感染很重要，对于揭示病毒进入的机制也是全新的研究。还有许多类似的生物学机理的研究有着独特的意义。

大多数杆状病毒的研究主要针对 BV 病毒粒子的研究，主要是因为研究 BV 功能可以用培养的细胞，然而 ODV 在研究整体动物经口感染的时候比较有利。ODV 的结构比 BV 的结构复杂，比如一个病毒粒子有多个核衣壳，有包涵体，病毒蛋白组成更复杂。但 ODV 相关的蛋白有许多功能，比如病毒 DNA 包装，衣壳的转移，干扰细胞循环，DNA 复制和 DNA 修复等等。病毒包涵体是一个很独特的生物学现象。理解了这其中的机制可能比在杆状病毒生物学方面有着更重要的应用价值。有可能改造杆状病毒去包裹或携带疫苗或是生物医药物质（He *et al.*, 2009）。包涵体是一个很理想的包装，包裹的颗粒只要改变 pH 就能够快速地释放。在纳米生物技术上有着很大的应用潜力。再如，ODV 蛋白与

昆虫中肠之间的相互作用很难研究，但现在的昆虫基因组和中肠 cDNA/EST 文库则可能有助于我们发现 ODV 在中肠上的受体，鉴定这些受体可能在杆状病毒生物学上有重要的意义，有可能产生出新的生物控制的技术。还有，ODV 在后期的蛋白合成和装配时，是什么机制让它如此“聪明”地和一些有利于其感染的蛋白一起包装起来(Liu *et al*., 2008)？这些都是让人着迷的问题。在将来我们可以期待许多有价值的新发现，最终阐明杆状病毒与昆虫之间错综复杂的相互关系。

参考文献（References）

Airenne KJ, Hu YC, Kost TA, Smith RH, Kotin RM, Ono C, Matsuura Y, Wang S, Yla-Herttuala S, 2013. Baculovirus: an insect-derived vector for diverse gene transfer applications. *Molecular Therapy*, 21(4): 739 – 749.

Blissard GW, Wenz JR, 1992. Baculovirus gp64 envelope glycoprotein is sufficient to mediate pH-dependent membrane fusion. *J. Virol.*, 66(11): 6829 – 6835.

Braunagel SC, Russell WK, Rosas-Acosta G, Russell DH, Summers MD, 2003. Determination of the protein composition of the occlusion-derived virus of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100(17): 9797 – 9802.

Braunagel SC, Summers MD, 1994. *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus, PDV, and ECV viral envelopes and nucleocapsids: structural proteins, antigens, lipid and fatty acid profiles. *Virology*, 202(1): 315 – 328.

Braunagel SC, Summers MD, 2007. Molecular biology of the baculovirus occlusion-derived virus envelope. *Curr. Drug Targets*, 8(10): 1084 – 1095.

Braunagel SC, Guidry PA, Rosas-Acosta G, Engelking L, Summers MD, 2001. Identification of BV/ODV-C42, an *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus orf101-encoded structural protein detected in infected-cell complexes with ODV-EC27 and p78/83. *J. Virol.*, 75(24): 12331 – 12338.

Bump NJ, Hackett M, Hugunin M, Seshagiri S, Brady K, Chen P, Ferenz C, Franklin S, Ghayur T, Li P, Et A, 1995. Inhibition of ICE family proteases by baculovirus antiapoptotic protein p35. *Science*, 269(5232): 1885 – 1888.

Burma S, Mukherjee B, Jain A, Habib S, Hasnain SE, 1994. An unusual 30-kDa protein binding to the polyhedrin gene promoter of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus. *J. Biol. Chem.*, 269(4): 2750 – 2757.

Carpentier DCJ, Griffiths CM, King LA, 2008. The baculovirus P10 protein of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus forms two distinct cytoskeletal-like structures and associates with polyhedral occlusion bodies during infection. *Virology*, 371(2): 278 – 291.

Charlton CA, Volkman LE, 1991. Sequential rearrangement and nuclear polymerization of actin in baculovirus-infected *Spodoptera frugiperda* cells. *J. Virol.*, 65(3): 1219 – 1227.

Charlton CA, Volkman LE, 1993. Penetration of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus nucleocapsids into IPLB Sf 21 cells induces actin cable formation. *Virology*, 197(1): 245 – 254.

Cherbas L, Cherbas P, 1993. The arthropod initiator: the capsite consensus plays an important role in transcription. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 23(1): 81 – 90.

Clem RJ, 2007. Baculoviruses and apoptosis: a diversity of genes and responses. *Curr. Drug Targets*, 8(10): 1069 – 1074.

Clem RJ, Fechheimer M, Miller LK, 1991. Prevention of apoptosis by a baculovirus gene during infection of insect cells. *Science*, 254(5036): 1388 – 1390.

Dubrez-Daloz L, Dupoux A, Cartier J, 2008. IAPs: more than just inhibitors of apoptosis proteins. *Cell Cycle*, 7(8): 1036 – 1046.

Fang M, Nie Y, Harris S, Erlandson MA, Theilmann DA, 2009. *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus core gene *ac*96 encodes a per os infectivity factor (PIF-4). *J. Virol.*, 83(23): 12569 – 12578.

Fang M, Nie Y, Wang Q, Deng F, Wang R, Wang H, Wang H, Vlak JM, Chen X, Hu Z, 2006. Open reading frame 132 of *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus encodes a functional *per os* infectivity factor (PIF-2). *J. Gen. Virol.*, 87(Pt 9): 2563 – 2569.

Faulkner P, Kuzio J, Williams GV, Wilson JA, 1997. Analysis of p74, a PDV envelope protein of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus required for occlusion body infectivity *in vivo*. *J. Gen. Virol.*, 78(Pt 12): 3091 – 3100.

Flipsen JTM, Martens JWM, Van Oers MM, Vlak JM, van Lent JW, 1995. Passage of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus through the midgut epithelium of *Spodoptera exigua* larvae. *Virology*, 208(1): 328 – 335.

Funk CJ, Consigli RA, 1993. Phosphate cycling on the basic protein of *Plodia interpunctella* granulosis virus. *Virology*, 193(1): 396 – 402.

Ghosh S, Jain A, Mukherjee B, Habib S, Hasnain SE, 1998. The host factor polyhedrin promoter binding protein (PPBP) is involved in transcription from the baculovirus polyhedrin gene promoter. *J. Virol.*, 72(9): 7484 – 7493.

Goley ED, Ohkawa T, Mancuso J, Woodruff JB, D'Alessio JA, Cande WZ, Volkman LE, Welch MD, 2006. Dynamic nuclear actin assembly by Arp2/3 complex and a baculovirus WASP-like protein. *Science*, 314(5798): 464 – 467.

Granados RR, Lawler KA, 1981. In vivo pathway of *Autographa californica* baculovirus invasion and infection. *Virology*, 108(2): 297 – 308.

Guy MP, Friesen PD, 2008. Reactive-site cleavage residues confer target specificity to baculovirus P49, a dimeric member of the P35 family of caspase inhibitors. *J. Virol.*, 82(15): 7504 – 7514.

Haas-Stapleton EJ, Washburn JO, Volkman LE, 2004. P74 mediates specific binding of *Autographa californica* m nucleopolyhedrovirus occlusion-derived virus to primary cellular targets in the midgut epithelia of *Heliothis virescens* larvae. *J. Virol.*, 78(13): 6786 – 6791.

Harrison RL, Sparks WO, Bonning BC, 2010. *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus ODV-E56 envelope protein is required

for oral infectivity and can be substituted functionally by *Rachiplusia ou* multiple nucleopolyhedrovirus ODV-E56. *J. Gen. Virol.*, 91(Pt 5): 1173 – 1182.

He F, Madhan S, Kwang J, 2009. Baculovirus vector as a delivery vehicle for influenza vaccines. *Expert Rev. Vaccines*, 8(4): 455 – 467.

Hefferon KL, 2004. Baculovirus late expression factors. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, 7(3): 89 – 101.

Hirai M, Terenius O, Li W, Faye I, 2004. Baculovirus and dsRNA induce hemolin, but no antibacterial activity, in *Antheraea pernyi*. *Insect Mol. Biol.*, 13(4): 399 – 405.

Hitchman RB, Possee RD, King LA, 2009. Baculovirus expression systems for recombinant protein production in insect cells. *Recent Pat. Biotechnol.*, 3(1): 46 – 54.

Hu YC, 2006. Baculovirus vectors for gene therapy. *Adv. Virus Res.*, 68: 287 – 320.

Kikhno I, Gutierrez S, Croizier L, Croizier G, Ferber ML, 2002. Characterization of *pif*, a gene required for the *per os* infectivity of *Spodoptera littoralis* nucleopolyhedrovirus. *J. Gen. Virol.*, 83 (Pt 12): 3013 – 3022.

Kogan PH, Chen X, Blissard GW, 1995. Overlapping TATA-dependent and TATA-independent early promoter activities in the baculovirus gp64 envelope fusion protein gene. *J. Virol.*, 69(3): 1452 – 1461.

Lanier LM, Volkman LE, 1998. Actin binding and nucleation by *Autographa california* M nucleopolyhedrovirus. *Virology*, 243(1): 167 – 177.

Li K, Wang Y, Bai H, Wang Q, Song J, Zhou Y, Wu C, Chen X, 2010. The putative pocket protein binding site of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus BV/ODV-C42 is required for virus-induced nuclear actin polymerization. *J. Virol.*, 84 (15): 7857 – 7868.

Li Z, Blissard GW, 2009. The pre-transmembrane domain of the *Autographa californica* multicapsid nucleopolyhedrovirus GP64 protein is critical for membrane fusion and virus infectivity. *J. Virol.*, 83(21): 10993 – 11004.

Liu X, Chen K, Cai K, Yao Q, 2008. Determination of protein composition and host-derived proteins of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus by 2-dimensional electrophoresis and mass spectrometry. *Intervirology*, 51(5): 369 – 376.

Long G, Pan X, Kormelink R, Vlak JM, 2006. Functional entry of baculovirus into insect and mammalian cells is dependent on clathrin-mediated endocytosis. *J. Virol.*, 80(17): 8830 – 8833.

Lu S, Ge G, Qi Y, 2004. Ha-VP39 binding to actin and the influence of F-actin on assembly of progeny virions. *Arch. Virol.*, 149 (11): 2187 – 2198.

Ma YB, Chang HY, 2011. Caspase work model during pathogen infection. *Virol. Sin.*, 26(6): 366 – 375.

Makela AR, Oker-Blom C, 2008. The baculovirus display technology – an evolving instrument for molecular screening and drug delivery. *Comb. Chem. High Throughput Screen.*, 11(2): 86 – 98.

Marek M, Merten OW, Francis-Devaraj F, Oers MM, 2012. Essential C-terminal region of the baculovirus minor capsid protein VP80 binds DNA. *J. Virol.*, 86(3): 1728 – 1738.

Monsma SA, Blissard GW, 1995. Identification of a membrane fusion domain and an oligomerization domain in the baculovirus GP64 envelope fusion protein. *J. Virol.*, 69(4): 2583 – 2595.

Monsma SA, Oomens AG, Blissard GW, 1996. The GP64 envelope fusion protein is an essential baculovirus protein required for cell-to-cell transmission of infection. *J. Virol.*, 70(7): 4607 – 4616.

Nakazawa H, Tsuneishi E, Ponnuvel KM, Furukawa S, Asaoka A, Tanaka H, Ishibashi J, Yamakawa M, 2004. Antiviral activity of a serine protease from the digestive juice of *Bombyx mori* larvae against nucleopolyhedrovirus. *Virology*, 321(1): 154 – 162.

Ohkawa T, Volkman LE, Welch MD, 2010. Actin-based motility drives baculovirus transit to the nucleus and cell surface. *J. Cell Biol.*, 190 (2): 187 – 195.

Ohkawa T, Washburn JO, Sitapara R, Sid E, Volkman LE, 2005. Specific binding of *Autographa californica* m nucleopolyhedrovirus occlusion-derived virus to midgut cells of *Heliothis virescens* larvae is mediated by products of pif genes *Ac*119 and *Ac*022 but not by *Ac*115. *J. Virol.*, 79(24): 15258 – 15264.

Passarelli AL, 2011. Barriers to success: how baculoviruses establish efficient systemic infections. *Virology*, 411(2): 383 – 392.

Passarelli AL, Guarino LA, 2007. Baculovirus late and very late gene regulation. *Curr. Drug Targets*, 8(10): 1103 – 1115.

Patmanidi AL, Possee RD, King LA, 2003. Formation of P10 tubular structures during AcMNPV infection depends on the integrity of host-cell microtubules. *Virology*, 317(2): 308 – 320.

Pijlman GP, Pruijssers AJP, Vlak JM, 2003. Identification of *pif*-2, a third conserved baculovirus gene required for *per os* infection of insects. *J. Gen. Virol.*, 84(Pt 8): 2041 – 2049.

Ponnuvel KM, Nakazawa H, Furukawa S, Asaoka A, Ishibashi J, Tanaka H, Yamakawa M, 2003. A lipase isolated from the silkworm *Bombyx mori* shows antiviral activity against nucleopolyhedrovirus. *J. Virol.*, 77(19): 10725 – 10729.

Rohrmann GF, 1992. Baculovirus structural proteins. *J. Gen. Virol.*, 73 (Pt 4): 749 – 761.

Russell RL, Rohrmann GF, 1990. A baculovirus polyhedron envelope protein: immunogold localization in infected cells and mature polyhedra. *Virology*, 174(1): 177 – 184.

Selot R, Kumar V, Shukla S, Chandrakuntal K, Brahmaraju M, Dandin SB, Laloraya M, Kumar PG, 2007. Identification of a soluble NADPH oxidoreductase (BmNOX) with antiviral activities in the gut juice of *Bombyx mori*. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 71(1): 200 – 205.

Shen H, Chen K, 2012. Bm61 of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus: its involvement in the egress of nucleocapsids from the nucleus. *FEBS Lett.*, 586(7): 990 – 995.

Si YH, Fang MG, Huang Y, Zheng FL, Li T, Hu ZH, Wang HZ, 2007. Construction and characterization of a *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus bacterial artificial chromosome with deletion of ecdysteroid UDP-glucosyltransferase gene. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71(10): 2435 – 2441.

Slavicek JM, Popham HJ, 2005. The *Lymantria dispar* nucleopolyhedrovirus enhancins are components of occlusion-derived

virus. *J. Virol.*, 79(16): 10578–10588.

Sparks WO, Harrison RL, Bonning BC, 2011. *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus ODV-E56 is a *per os* infectivity factor, but is not essential for binding and fusion of occlusion-derived virus to the host midgut. *Virology*, 409(1): 69–76.

Suzuki T, Kanaya T, Okazaki H, Ogawa K, Usami A, Watanabe H, Kadono-Okuda K, Yamakawa M, Sato H, Mori H, Takahashi S, Oda K, 1997. Efficient protein production using a *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus lacking the cysteine proteinase gene. *J. Gen. Virol.*, 78(Pt 12): 3073–3080.

Tian CH, Zhao JF, Xu YP, Xue J, Zhang BQ, Cui YJ, Zhang MJ, Bao YY, Zhang CX, 2009. Involvement of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus ORF41 (*Bm*41) in BV production and ODV envelopment. *Virology*, 387(1): 184–192.

Uwo MF, Ui-Tei K, Park P, Takeda M, 2002. Replacement of midgut epithelium in the greater wax moth, *Galleria mellonela*, during larval-pupal moult. *Cell Tissue Res.*, 308(2): 319–331.

van Beek N, Davis DC, 2007. Baculovirus insecticide production in insect larvae. *Methods Mol. Biol.*, 388: 367–378.

Vanarsdall AL, Mikhailov VS, Rohrmann GF, 2007. Baculovirus DNA replication and processing. *Curr. Drug Targets*, 8(10): 1096–1102.

Vialard JE, Richardson CD, 1993. The 1,629-nucleotide open reading frame located downstream of the *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus polyhedrin gene encodes a nucleocapsid-associated phosphoprotein. *J. Virol.*, 67(10): 5859–5866.

Wang Y, Wang Q, Liang C, Song J, Li N, Shi H, Chen X, 2008. *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus nucleocapsid protein BV/ODV-C42 mediates the nuclear entry of p78/83. *J. Virol.*, 82(9): 4554–4561.

Washburn JO, Chan EY, Volkman LE, Aumiller JJ, Jarvis DL, 2003. Early synthesis of budded virus envelope fusion protein GP64 enhances *Autographa californica* multicapsid nucleopolyhedrovirus virulence in orally infected *Heliothis virescens*. *J. Virol.*, 77(1): 280–290.

Xu H, Yao L, Lu S, Qi Y, 2007. Host filamentous actin is associated with *Heliothis armigera* single nucleopolyhedrosis virus (HaSNPV) nucleocapsid transport to the host nucleus. *Curr. Microbiol.*, 54(3): 199–206.

Xue J, Qiao N, Zhang W, Cheng RL, Zhang XQ, Bao YY, Xu YP, Gu LZ, Han JD, Zhang CX, 2012. Dynamic interactions between *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus and its host cells revealed by transcriptome analysis. *J. Virol.*, 86(13): 7345–7359.

Yang ZN, Xu HJ, Thiem SM, Xu YP, Ge JQ, Tang XD, Tian CH, Zhang CX, 2009. *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus ORF9 is a gene involved in the budded virus production and infectivity. *J. Gen. Virol.*, 90(Pt 1): 162–169.

Young JC, Mackinnon EA, Faulkner P, 1993. The architecture of the virogenic stroma in isolated nuclei of *Spodoptera frugiperda* cells *in vitro* infected by *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus. *Journal of Structural Biology*, 110(2): 141–153.

Yuan M, Huang Z, Wei D, Hu Z, Yang K, Pang Y, 2011. Identification of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus *ac*93 as a core gene and its requirement for intranuclear microvesicle formation and nuclear egress of nucleocapsids. *J. Virol.*, 85(22): 11664–11674.

Zhang H, Huang H, Cali A, Takvorian PM, Feng X, Zhou G, Weiss LM, 2005. Investigations into microsporidian methionine aminopeptidase type 2: a therapeutic target for microsporidiosis. *Folia Parasitol.* (*Praha*), 52(1–2): 182–192.

Zhang JH, Ohkawa T, Washburn JO, Volkman LE, 2005. Effects of Ac150 on virulence and pathogenesis of *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus in noctuid hosts. *J. Gen. Virol.*, 86(Pt 6): 1619–1627.

Zhang MJ, Cheng RL, Lou YH, Ye WL, Zhang T, Fan XY, Fan HW, Zhang CX, 2012. Disruption of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus ORF71 (*Bm*71) results in inefficient budded virus production and decreased virulence in host larvae. *Virus Genes*, 45(1): 161–168.

（责任编辑：赵利辉）